

عملکرد زیستسورفاکتانت در ازدیاد برداشت نفت به روش میکروبی

مجتبی خانی، علی بهرامی*، حمید مشمری

تهران، دانشگاه صنعتی مالک اشتر، پژوهشکده علوم و فناوری زیستی، گروه مهندسی شیمی- بیوتکنولوژی

پیام نگار: a_bahrami@mut.ac.ir

چکیده

ازدیاد برداشت نفت به روش میکروبی^۱ به کلیه فرایندهایی اطلاق می‌شود که در آنها از قابلیت تولید متابولیت‌های میکروبی توسط میکروارگانیسم‌های مختلفی جهت بهبود بازدهی استخراج نفت استفاده می‌شود. از جمله این متابولیت‌ها، زیستسورفاکتانت‌ها^۲ می‌باشند. زیستسورفاکتانت‌ها ترکیبات فعال سطحی هستند که با کاهش کشش سطحی منجر به حل شدن ترکیبات آلی در ترکیبات غیرآلی می‌شوند. این مقاله مروری بر روش‌ها و مزیت‌های بهره‌گیری از زیستسورفاکتانت و فاکتورهای مؤثر در تولید آنها و همچنین تأثیر شرایط محیطی بر عملکرد زیستسورفاکتانت‌ها در ازدیاد برداشت میکروبی نفت خواهد داشت.

کلمات کلیدی: ازدیاد برداشت، زیستسورفاکتانت، نفت، MEOR

شرایط فیزیکی چاههای نفت با هم تفاوت دارند نمی‌توان برای همه

آنها از یک نوع ریزاندام استفاده کرد. مثلاً در چاههای کم عمق کار با روش MEOR به دلیل دمای کمتر نسبت به چاههای عمیق که دمای بالاتری دارند آسان تر است [۱].

از جمله مواردی که باعث مطرح شدن روش MEOR در بین سایر روش‌های ازدیاد برداشت شده است، مزایای اقتصادی این روش می‌باشد. از دیدگاه اقتصادی مزایای زیر را می‌توان برای این روش برشمرد [۲ و ۳]:

- ارزان قیمت بودن ریزاندامها و مواد مغذی مورد نیاز در این فرایند.
- با توجه به نیاز آب در این فرایند استفاده از MEOR در میادین دریایی از نظر اقتصادی با صرفه است.
- قیمت مواد تزریقی ارتباطی با قیمت نفت و نوسانات آن ندارد.
- تجهیزات سیلاب زنی آب در این مورد نیز قابل استفاده می‌باشند.

۱- مقدمه

ازدیاد میکروبی برداشت نفت (MEOR) به روشنی اطلاق می‌شود که در آن با استفاده از توانایی میکروارگانیسم‌ها میزان نفت استخراجی از چاهها افزایش می‌یابد. میکروب‌ها به سه طریق می‌توانند باعث ازدیاد برداشت از مخازن نفتی شوند:

۱- با اکسیداسیون نفت، اسید چربی تولید می‌کنند که باعث کاهش گرانروی نفت می‌شود.

۲- با تولید مقدار نسبی از گاز CO₂، باعث افزایش فشار در مخزن می‌شوند، از این رو مانند تزریق گاز عمل می‌کنند.

۳- بیومس میکروبی در سطح مشترک سنگ و نفت موجود در مخزن باعث جابجایی فیزیکی نفت می‌شود.

عوامل محدود کننده استفاده از MEOR شامل شرایط فیزیکی نفت مثل دما، فشار، نمک و سایر شرایط فیزیکی می‌باشد. از آنجا که

1. Microbial Enhanced oil Recovery
2. Biosurfactants

- برای رشد و متابولیسم به مواد پیچیده جهت مواد مغذی نیاز نداشته باشد.

روش‌های ازدیاد برداشت میکروبی نفت عبارتند از [۵]:

- روش درون محلی^{۱۱}
- روش برون محلی^{۱۲}

تفاوت این دو روش در مکان انجام آن است. در روش درون محلی، تولید محصول میکروبی در داخل مخزن صورت می‌گیرد. این کار می‌تواند با تحریک میکروب‌های موجود در مخزن یا با تزریق میکروب‌های خارجی صورت پذیرد که با تولید متابولیت ویژه موجب افزایش برداشت نفت می‌شود. اما در روش برون محلی، محصولات میکروبی در جایی خارج از مخزن تولید شده و سپس با جداسازی یا بدون جداسازی سلول‌های باکتریایی به مخزن تزریق می‌شود. در این مورد بیوراکتورها با اندازه اقتصادی مدنظر است، تا بتوانند میزان متابولیت مورد نیاز را تولید کنند. در فرایند درون محلی که میکروب‌های خارجی به داخل مخزن تزریق می‌شوند، مطالعات جهت تخمین واکنش میکروب‌های تزریقی با میکروب‌های غیربومی، مواد مغذی، نفت و سنگ از اهمیت بالایی برخوردار است [۸]. موفقیت فرایند MEOR درون محلی به انتخاب سنگ مخزن، پتانسیل گونه‌های باکتریایی، زیست پذیری باکتری تحت شرایط مخزن، مقدار متابولیت‌های تولیدی و تأثیر آنها در استخراج و سایر فاکتورهای اقتصادی بستگی دارد. یکی از نگرانی‌های اصلی صنعت جهانی نفت در ارتباط با SRBها است که همان باکتری‌های احیاکننده سولفات‌هستند، این باکتری‌ها شوری و خوردگی رادر اثر تولید H₂S ایجاد می‌کنند. به همین جهت باید مراقبت‌های لازمه صورت گیرد تا به هنگام تزریق مواد به داخل چاه، آلودگی به همراه آنها وارد مخزن نشود. در تحقیقی از زیست کش‌ها جهت حذف این باکتری‌های زیان بار استفاده شده است [۱۱].

مکانیسم‌های مورد استفاده در ازدیاد برداشت نفت عبارتند از [۴]:

- اصلاح خصوصیات نفوذپذیری و تخلخل
- تغییر خصوصیت خیس شوندگی
- انحلال نفت
- امولسیون کنندگی
- تغییر نیروهای بین سطحی
- کاهش نسبت تحرک نفت
- تغییر مسیرهای متابولیکی میکروبی با سدیم بی کربنات

11. In situ
12. Ex situ

- کلیه محصولات MEOR زیست تخریب پذیر بوده و در مورد محیط زیست تجمع نیافته آلودگی محیط زیست را به همراه ندارند.

- روش MEOR از نظر اقتصادی با سایر روش‌های ازدیاد برداشت رقابت می‌کند.

استفاده از میکروب‌ها در ازدیاد برداشت نفت بحث جدیدی نیست. در سال ۱۹۲۶ بکمن^۱ برای اولین بار دریافت که ریزاندام‌ها قابلیت استخراج نفت از یک محیط متخلف را دارند. در بین سال‌های ۱۹۲۶ تا ۱۹۴۰، تحقیقات محدودی در این زمینه صورت گرفت که سرانجام در سال ۱۹۴۰، زوبل^۲ و گروه تحقیقاتی وی پژوهش درخصوص این موضوع را آغاز کردند. نتایج کار آنها افق جدیدی را در میکروبیولوژی نفت گشود که در برداشت نفت کاربرد داشت. زوبل مکانیسم اصلی استخراج نفت از محیط متخلف را که رقیق سازی کربنات‌های غیرآلی است، مورد بررسی قرارداد. وی با بهره‌گیری از متابولیت‌های میکروبی همچون: تولید گازهای باکتریایی که ویسکوزیته نفت را کاهش می‌دهد، بیومس^۳ سلولی، حلal‌ها، عوامل فعال سطحی (زیست‌سورفاکتانت‌ها) و اسیدها توансست به استخراج بیشتر نفت برسد. در این میان از باکتری‌های مختلف جهت ازدیاد برداشت بهره گرفته شد که از جمله آنها: گونه‌های کلستریدیوم^۴، باسیلوس^۵، سودوموناس^۶، آرتروباکتریوم^۷، میکروکوکوس^۸، پیتوکوکوس^۹، میکوباکتریوم^{۱۰} و غیره است [۴].

۲- روش MEOR

باکتری‌های مورد استفاده در این روش باید از خصوصیات زیر برخوردار باشند:

- کوچک باشند.
- قابلیت رشد سریع و تحرک بالا در چاه داشته باشند.
- ترکیب متابولیت مناسبی از جمله گاز، اسید و حلal تولید کنند.
- قادر به تحمل شرایط محیطی سخت از نظر دما، pH و شوری بالا را داشته باشند.

1. Beckman
2. ZoBell
3. Biomass
4. Clostridium
5. Bacillus
6. Pseudomonas
7. Arthrobacterium
8. Micrococcus
9. Peptococcus
10. Mycobacterium

ویژگی‌های متابولیت‌های میکروبی متداول در صنعت نفت در جدول

(۱) ارائه گردیده است.

همانطور که در جدول (۲) بیان شده است، کاربرد و فعالیت زیست‌سورفاکtantها را در صنعت نفت به طور کلی به سه دسته تقسیم می‌کنیم، استخراج، انتقال و پاک کردن آلودگی در مخازن نفت [۲۲].

جدول (۲) را می‌توان به بیانی ساده در شکل (۱) مشاهده نمود [۱۲]. زیست‌سورفاکtantها دوستدار محیط زیست، با قابلیت تجزیه زیستی، و با سمیت کمتری هستند. این ترکیبات خاصیت کف کنندگی بهتر و گزینش‌پذیری بالاتری دارند. در دماهای بالا، pH و نمک بالا، فعال هستند و می‌توانند از فاضلابهای صنعتی تغذیه کنند. این امر موجب کاهش زیان‌های ناشی از این فاضلابها در محیط زیست شده است [۷].

۳- زیست‌سورفاکtant

زیست‌سورفاکtantها مولکولهای آمفی فیلیک^۱ هستند که یک بخش آبدوستی^۲ و یک بخش آبگریزی^۳ دارند، که موجب کاهش کشش سطحی آب، نفت و سنگ، امولسیون نفت خام و قابلیت خیسی را تغییر می‌دهند. علاوه بر MEOR، زیست‌سورفاکtantها در زیست پالایی بیولوژیکی، مهندسی تخمیر، صنایع آرایشی، صنایع غذایی و غیره کاربرد دارند. به خاطر ساختار آمفی فیلیک آنها، زیست‌سورفاکtantها بخش هیدرووفوبیک خود را افزایش می‌دهند، که قابلیت دسترسی به آب چنین موادی را افزایش، و پروتئین‌های سطح سلول میکروبی را تغییر می‌دهد. فعالیت سطحی، سورفاکtantها را به امولسیون کثنه عالی، کف کننده و عامل پخش کننده بدل کرده است. زیست‌سورفاکtantها در مقایسه با معادلهای سنتزی شیمیایی آنها فواید فراوانی دارند [۶]. برخی از کاربردها و

جدول ۱- محصولات میکروبی، نقش آنها در ازدیاد برداشت و برخی از تأثیرات آنها در محصولات نفتی [۴]

محصول میکروبی	نقش در ازدیاد برداشت	برخی تأثیرات
گازها (CO_2 , H_2 , N_2)	<ul style="list-style-type: none"> کاهش گرانزوی و بهبود ویژگی‌های جريان تحرک و جلبجایی پاک کردن نفت از محل 	<ul style="list-style-type: none"> بهبود برداشت نفت با گازها شناورسازی با CO_2
اسیدها (اسیدهای با جرم مولکولی پائین، اسیدهای چرب با جرم مولکولی پائین)	<ul style="list-style-type: none"> بهبود تأثیر نفوذپذیری با رسوب کربنات محلول از دهانه متخلخل. بهبود قابل قبول نفوذ و تخلخل تولید CO_2 از واکنش‌های شیمیایی بین اسیدها و کربنات، کاهش گرانزوی نفت 	<ul style="list-style-type: none"> افزایش شناوری نفت
حلال‌ها (الکل‌ها و کتون‌هایی که عموماً کوسورفاکtant ^۴ هستند)	<ul style="list-style-type: none"> انحلال در نفت و کاهش گرانزوی انحلال و حذف هیدروکربن‌های راست زنجیر از دهانه‌های متخلخل کاهش کشش بین سطحی 	<ul style="list-style-type: none"> بهبود امولسیون کنندگی جهت افزایش امتصاص پذیری
زیست‌سورفاکtant‌ها	<ul style="list-style-type: none"> کاهش کشش بین سطحی نفت و سطح سنگ/آب تغییر خصوصیات خیس شوندگی 	<ul style="list-style-type: none"> سورفاکtant میکروبی شناورسازی
زیست‌بسپارها	<ul style="list-style-type: none"> بهبود گرانزوی آب در آپوشه و سیلات مستقیم کنترل حرک آب بهبود عملکرد پاکسازی آپوشه 	<ul style="list-style-type: none"> اصلاح نفوذپذیری میکروبی
بیومس (سلول‌های میکروبی)	<ul style="list-style-type: none"> ایجاد منطقه‌ای با نفوذپذیری بالا لغو خیس شوندگی با رشد میکروبی تجزیه جزئی انتخاب پذیر تمامی نفت خام نقش عوامل انتخاب پذیر و غیرانتخاب پذیر در استخراج، خیس کنندگی و گرانزوی نفت جایگزینی فیزیکی نفت با رشد بین سطح نفت و سنگ/آب 	<ul style="list-style-type: none"> زیست‌بسپار مشابه

1. Amphiphilic

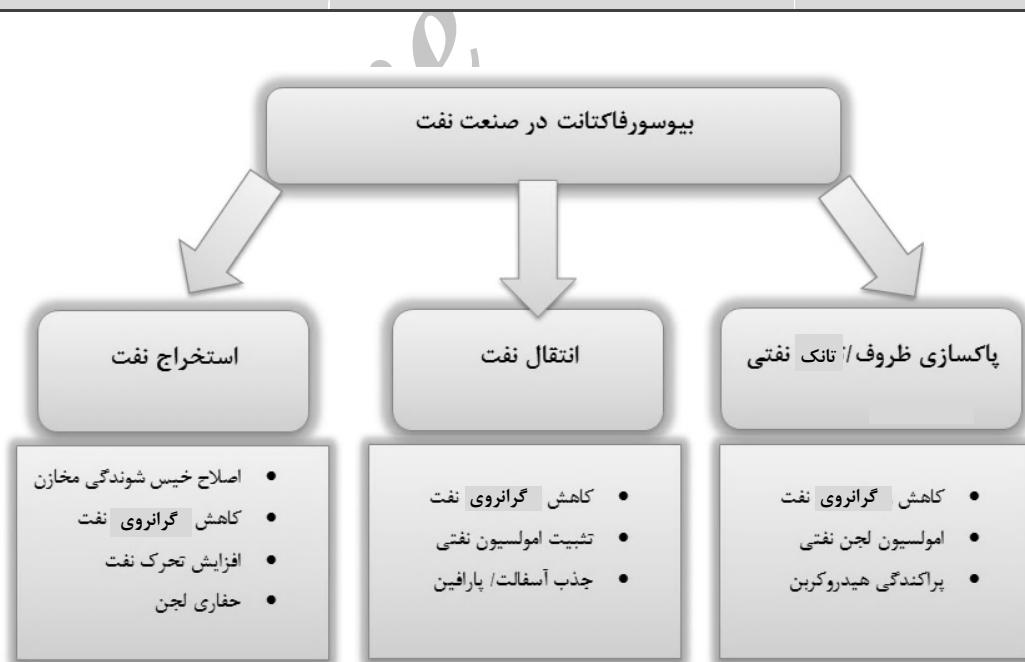
2. Hydrophilic

3. Hydrophobic

4. Cosurfactants

جدول ۲- کاربردهای زیستسورفاکتانت‌ها در صنعت نفت [۲۲]

صنعت	کاربردها	فعالیت‌ها
استخراج نفت	بهبود خصوصیات ترشوندگی ^۱ مخزن کاهش گرانروی نفت رقیق سازی لجن پراکنده ^۲ کنترل جذب پارافین/ آسفالت افزایش جابجایی نفت	عوامل ^۳ پوشش و خیس کردن امولسیون کنندگی عوامل پراکنده کردن عوامل حل کننده عوامل کاهش کشش بین سطحی
حمل و نقل نفت	کاهش گرانروی نفت تشییت امولسیون نفت کنترل جذب پارافین/ آسفالت	امولسیون کنندگان عوامل پوشش عوامل حل کننده
پاک سازی مخزن / کانتینر نفتی	امولسیون لجن نفت پراکنده‌گی هیدروکربن	امولسیون کنندگان عوامل پراکنده کردن



شکل ۱- کاربرد زیستسورفاکتانت در صنعت نفت [۱۲]

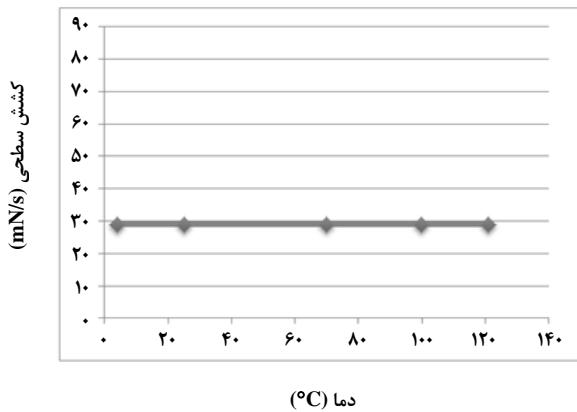
1. Wettability
2. Dispersion
3. Agents

و بهداشتی مصرف داشته باشند[۲۳]. در جدول (۳) انواع زیستسورفاکتانت‌ها و طبقه بندی آنها به دلیل فواید بالای زیستسورفاکتانت‌ها، این مواد می‌توانند در مصارف مختلفی از جمله کشاورزی، تولید غذا، شیمی، لوازم آرایشی

جدول ۳- دسته‌بندی زیستسورفاکتانت‌ها و کاربردهای زیست محیطی آنها[۷]

زیست محیطی یکی از کاربردها در بیوتکنولوژی	مولد زیستسورفاکتانت	کلاس	گروه
حذف فلزات از نفت	سودوموناس آرجینوسا	رامنولیپید	
افزایش توانایی دسترسی زیستی هیدروکربن‌ها	مايكروباكتريوم متوبيركلوسیس	تری‌هالولیپید	گلابیکولیپید
بازیافت هیدروکربن‌ها از گل و لای	ترولوپسیس بومبیکولا	سوفرولیپید	
افزایش برداشت قیر	کورینباكتريوم لپوس	کرینومیکولیک اسید	
حذف یونهای فلزی از محلولهای آبی	پنی سیلیوم پیکولیسپوروم	پیکولیسپوریک اسید	اسیدهای چرب، فسفولیپید و لیپیدهای طبیعی
افزایش قدرت تحمل باکتری به فلزات سنگین	آسینتوباكتراس‌پی، رادوکوکوس اریتروپولیس	فسفاتی دی‌اتانول امین	
حذف فلزات سنگین از خاک آلوده	باسیلوس سابتیلیس	سورفاکتین	لیپوپیپیدها
ازدیاد برداشت نفت	باسیلوس لیکنیفورمیس	لیکنیسین	
ثبت هیدروکربن‌ها در امولسیون آب	RAG-1	امولسان	
ثبت هیدروکربن‌ها در امولسیون آب	آسینتوباكترکالکواستیکوس KA-53	آلسان	زیستسورفاکتانت‌های بسپاری
توزیع سنگ آهک در آب	آسینتوباكترکالکواستیکوس A2	بیودیسپران	
ثبت هیدروکربن در امولسیون آب	ساکارومایسیس سرویسیه	لیپوسان	
ثبت هیدروکربن در امولسیون آب	ساکارومایسیس سرویسیه	مانوپروتئین	

مواد فعال سطحی بیولوژیکی در برابر تغییرات دما تا حدود 120°C مقاوم هستند و در این محدوده افزایش دما هیچ تأثیری بر روی عملکرد مواد فعال سطحی بیولوژیکی نمی‌گذارد [۱۴ و ۱۵]. بدین صورت تغییری در مقدار کشش سطحی قبل و بعد از عملیات حرارتی (از مراحل ثانویه ازدیاد برداشت نفت) روی نمی‌دهد، این امر در شکل (۳) به خوبی ارائه شده است. [۱۷]



شکل ۳- نمودار تأثیر دما بر عملکرد زیستسورفاکتانت [۱۶]

فعالیت سطحی سورفاکتانت‌ها معمولاً در دمای بین 20 تا 25°C تخمین زده می‌شود، گاهی اوقات در دماهای بالاتر نیز استفاده می‌شوند. بنابراین طی تحقیقی کشش سطحی زیستسورفاکتانت و سورفاکتانت تجاری شیمیایی در سه دمای مختلف مورد بررسی قرار گرفته است. در این آزمایش با بهره‌گیری از ۴ سورفاکتانت سنتزی یا شیمیایی و یک زیستسورفاکتانت و استفاده از سه دمای مختلف به بررسی تأثیر دما بر کشش سطحی سورفاکتانت‌ها پرداخته‌اند که نتیجه آن در جدول (۴) موجود است [۱۸].

جدول ۴- تأثیر دما بر کشش سطحی سورفاکتانت‌ها [۱۸]

زیستسورفاکتانت	گلوکوپون ۶۵۰*	گلوکوپون ۲۱۵**	فیندت ۳	لاس ۱	دما (°C)
۳۰/۹	۳۲/۰	۳۱/۸	۳۷/۹	۳۱/۴	۲۰
۳۰/۲	۳۱/۸	۳۰/۸	۳۶/۶	۳۱/۱	۳۷
۲۹/۹	۳۱/۲	۳۰/۷	۳۶/۴	۳۰/۹	۴۶

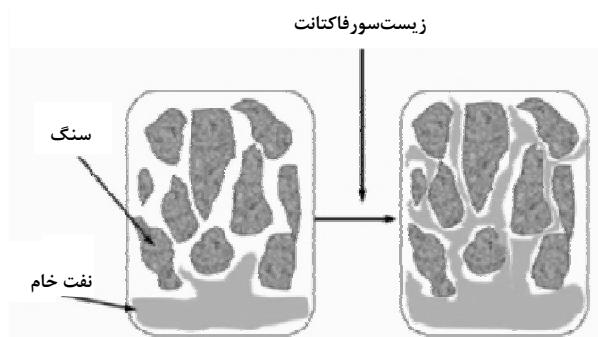
1. Las
2. Findet
3. Glucopone 215
4. Glucopone 650

۲-۳ مکانیسم عمل

زیستسورفاکتانت‌ها کشش بین سطحی نفت/آب و نفت/سنگ را کاهش می‌دهند. این کاهش نیروی موئینگی از حرکت نفت به داخل خلل و فرج سنگ جلوگیری می‌کند، زیستسورفاکتانت‌ها همچنین می‌توانند با ایجاد باند بین سطح مشترک آب و روغن، تشکیل امولسیون دهند [۷]. با این قابلیت انحلال می‌توان نفت را با آب تزریقی به چاه خارج نمود. در شکل (۲) شماتیکی از طریقه عمل زیستسورفاکتانت‌ها ارائه شده است.

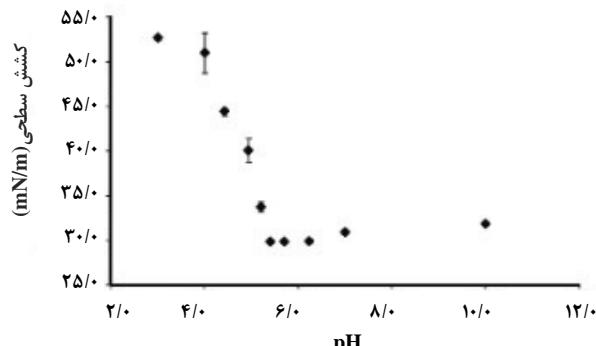
۳-۳ تأثیر دما، شوریو pH بر عملکرد زیستسورفاکتانت در فرایند MEOR

در روش MEOR مخلوطی از جمعیت میکروبی مورد استفاده قرار می‌گیرد که محصولات متابولیک آنها شامل: مواد فعال سطحی زیست‌شناختی، بسپارهای زیستی، زیست‌توده، اسیدها و حلال می‌باشد. به طور کلی باکتری‌ها و متابولیت‌های آنها در مخازن نفتی واپسی به شرایط محیطی مانند: دما، فشار، pH، حضور یا عدم حضور اکسیژن و همچنین منبع غذایی در دسترس، می‌باشند [۱۴].



شکل ۲- عملکرد زیستسورفاکتانت در ازدیاد برداشت [۷](MEOR)

حل است و میزان pH برای بهینه حلایت ۸/۵ است. شاید علت این امر به خاطر خصلت اسیدی سورفاکتین باشد. مولکول سورفاکتین شامل دو گروه کربوکسیلیک است که به آن طبیعت آبیونی می‌دهد. برای سورفاکتین در pH بین ۲ تا ۴ هیچ فعالیت سطحی عنوان نشده در حالی که بیشینه فعالیت سطحی آن در pH برابر ۶ عنوان شده است [۲۰].



شکل ۴- نمودار تأثیر pH بر عملکرد زیستسورفاکتانت [۱۹]

در تحقیق دیگری بیان شده است که در pH بین ۷/۵ تا ۱۰/۵، زیستسورفاکتانت نسبت به تغییر pH با ثبات است و تغییری در فعالیت سطحی آن ایجاد نمی‌شود و همانگونه که در جدول (۵) مشخص است، سورفاکتانت‌های سنتزی نسبت به تغییرات pH مقاومند [۲۱].

جدول ۵- تأثیر pH بر کشش سطحی [۲۱]

کشش سطحی		pH	
۶۵۰	گلوکوبون ۶۵۰	۲۱۵	۵
۳۷/۱	۳۱/۹	۳۱/۲	۳
۳۷/۲	۳۱/۸	۳۱/۵	۷
۳۷/۴	۳۱/۹	۳۰/۶	۱۰
		۴	Las

۳-۳-۳ شوری

با توجه به مطالعات انجام شده، افزایش مقدار شوری تا غلظت ۱۰٪ تأثیر محسوسی بر عملکرد مواد فعال سطحی زیستی نمی‌گذارد اما

- 4. Las
- 5. Findet
- 6. Glucopone 215
- 7. Glucopone 650

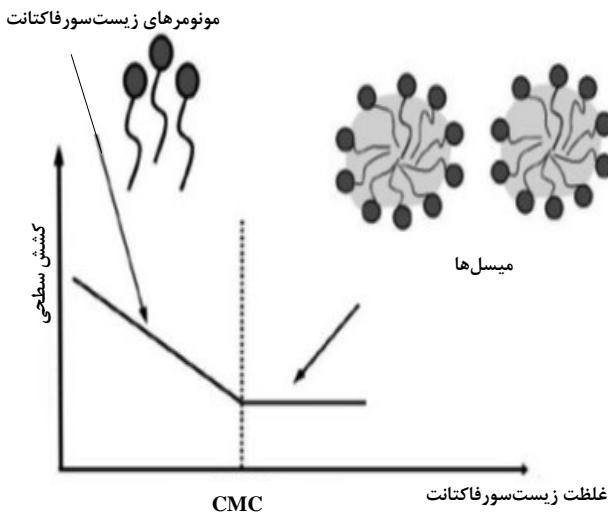
در آزمایش دیگری بوردویی^۱ و کنوار^۲ روی استخراج نفت خام از ستون اشباع تحت شرایط آزمایشگاهی، تحقیقاتی انجام دادند. در مطالعات آزمایشگاهی روی MEOR به طور معمول، هسته زیر لایه و ستون شامل زیر لایه مخصوص، معمولاً شن و ماسه است. این زیر لایه تنها جهت اثبات مزایای زیستسورفاکتانت‌ها در استخراج نفت از سنگ مخزن به کار گرفته شده است. بدین منظور به یک ستون شیشه‌ای پر شده با ماسه و نفت خام اشباع نیاز است. محلول آبی زیستسورفاکتانت در ستون پاشیده می‌شود. پتانسیل زیستسورفاکتانت‌ها در روش MEOR با اندازگیری مقدار نفت آزاد شده از ستون پس از افزودن محلول آبی به ستون تخمین زده می‌شود. برای بررسی تأثیر دما بر عملکرد زیستسورفاکتانت‌ها در بازیافت نفت از ۳ دما در آزمایش استفاده کردند: دمای محیط، ۷۰°C، ۹۰°C، ۹۰°C، که مشاهده نمودند که در دمای محیط بازدهی استخراج نفت خام ۴۹ تا ۵۴٪ و در دمای ۷۰ درجه سلسیوس ۵۲٪ تا ۵۷٪ و در دمای ۹۰ درجه ۵۸ تا ۶۲٪ بود [۷].

۳-۲-۳ تأثیر pH

فعالیت مواد فعال سطحی تحت تأثیر pH نیز می‌باشد، که نتایج بررسی محققین بیانگر این است که افزایش pH در بازه ۲ تا ۶ باعث کاهش مقدار فعالیت سطحی مواد بیولوژیکی می‌شود [۱۶] یا به عبارتی دیگر در شرایط اسیدی مواد فعال سطحی زیستی تهنشین می‌شوند [۱۷]. pH مطلوب برای این مواد عدد ۸ می‌باشد ضمن اینکه افزایش pH از ۸ به ۱۲ تأثیری بر فعالیت مواد فعال سطحی بیولوژیکی نمی‌گذارد [۱۶ و ۱۷]. تأثیر pH بر فعالیت زیستسورفاکتانت در شکل (۴) ارائه شده است.

همانگونه که در شکل (۴) مشخص است حداقل کشش سطحی زیستسورفاکتانت در pH بین ۵/۵ تا ۶ حاصل شده است. فعالیت سطحی زیستسورفاکتانت در pH بین ۵ تا ۱۰ تقریباً ثابت باقی می‌ماند که نشان دهنده ثبات بالای زیستسورفاکتانت در pH های قلیایی است. در pH برابر ۱۰، مقدار کشش سطحی تنها یک برابر بیشتر از این مقدار در pH برابر ۷ است، در حالیکه در pH برابر ۵ این مقدار، ۹ برابر بزرگتر است [۱۹]. سورفاکتین^۳ به عنوان یک سورفاکتانت شیمیایی، در محلول آبی در مقادیر pH بیشتر از ۵ قابل

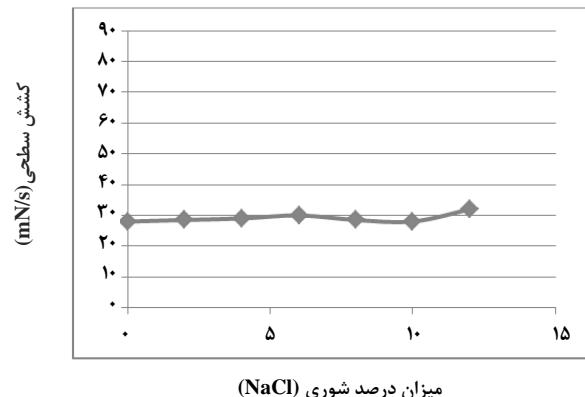
- 1. Bordoloi
- 2. Konwar
- 3. Surfactin



شکل ۶- نمودار ارتباط کشش سطحی با غلظت زیستسورفاکتانت [۷]

۴- تأثیر زیستسورفاکتانت بر کشش سطحی و بین سطحی کاهش کشش سطحی هوا- آب توسط سورفاکتنت ها، توانایی آنها در کاهش نیروی بین سطحی که باعث نگهداشت نفت و روغن در کنار هم می شود را نشان می دهد. نتایج مطالعات در این مورد در جدول (۵) ذکر شده است، که بیان کننده این امر است که CMC محلول تازه ای از رامنولیپید، آسین، ساپونین، لکتین، تانن و SDS در غلظتهای $0/0/0$ و $0/0/1$ و $0/1/0$ درصد جرمی $0/0/2$ رخ می دهد. CMC غلظت آبی سورفاکتنت ها است که کشش سطحی محلول ابتدا کوچکترین کشش سطحی را نشان می دهد. فاکتورهایی همچون: دما، الکترولیت و سختی آب بر CMC سورفاکتانت در محلول تأثیر می گذارند. این جدول نشان می دهد که در هر کدام از سورفاکتانت ها در چه غلظتی از آنها رخ 25mNm^{-1} می دهد. کشش بین سطحی نفت خام و آب تقدیر شده $4/5$ اندازه گیری شده است، زمانی که محلول سورفاکتانت اضافه می شود، این مقدار به مقادیر نشان داده شده در جدول (۶) تنزل می یابد. این جدول نشان می دهد که رامنولیپید و تانن پتانسیل بیشتری را جهت حذف نفت از خاک از خود نسبت به بقیه نشان می دهنند. که این امر به این خاطر است که کشش بین سطحی می تواند تا $4/5$ میلی نیوتون بر متر کاهش یابد. در حالی که لکتین پتانسیل پایینی در مقایسه با دیگر زیستسورفاکتانت ها نشان می دهد [۹].

در غلظت های بالاتر کشش سطحی حدود 12% افزایش می باید [۱۶]. تأثیر شوری بر عملکرد زیستسورفاکتانت ها در شکل (۵) آورده شده است.



شکل ۵- تأثیر میزان شوری بر فعالیت زیستسورفاکتانت ها [۱۶]

فعالیت زیستسورفاکتانت ها به غلظت ترکیبات فعال سطحی در حالت رسیدن به غلظت تجمعی بحرانی ^۱ (CMC) بستگی دارد. در غلظتهای بالاتر از CMC مولکولهای زیستسورفاکتانت به هم چسبیده و تشکیل توده، دولایه و کیسه های کوچک را می دهند. CMC معمولاً برای اندازگیری میزان اثر سورفاکتانت استفاده می شود. بیوسورفاکتانت های مؤثر، CMC پایینی را دارند، این بدین معناست که کمتر بیوسورفاکتانت ها جهت کاهش کشش سطحی استفاده می شوند [۱۳].

ساختار میسل ^۲ زیستسورفاکتانت ها را قادر به کاهش تنش سطحی و بین سطحی می کند و قابلیت احلال و توانایی زیستی آبدوستی ترکیبات آلی را افزایش می دهد. ساختار میسل نقش واضحی را در ساختار میکروامولسیون ایفا می کند. میکروامولسیون ها مخلوط های مایع پاک و پایدار از آب و محدوده ای از روغن است که بوسیله تک لایه یا تجمعی از زیستسورفاکتانت ها جداسازی می شوند. ساختار میسل و غلظت بحرانی تشکیل میسل در شکل (۶) ارائه گردیده است [۷].

میکروامولسیون ها زمانی که یک فاز مایع به صورت قطره در فاز مایع دیگری پخش شود، تغییر شکل می دهند، مثل: روغن پخش شده در آب (امولسیون مستقیم) یا آب پخش شده در روغن (امولسیون معکوس).

1. Critical Micelle Concentration
2. Micelle

جدول ۶- مقایسه سورفاکتانت و زیستسورفاکتانت در کاهش کشش سطحی و [cmc]

تائین	SDS	سایونین	رامنولیپید	لکتین	آسین	
۰/۰۰۸	۰/۲	۰/۱	۰/۰۲	۰/۰۴	۰/۱	(٪ وزنی) CMC
۵۰	۳۵	۳۹	۲۸	۳۵	۴۴۴	کشش سطحی (mNm ^{-۱})
۴/۵	۷/۰	۶/۰	۴/۵	۵/۰	۷/۰	کشش بین سطحی (mNm ^{-۱})

همچون طبیعت منبع کربن، منبع نیتروژن یا به عبارتی دیگر نسبت C به N، محدودیت مواد مغذی، پارامترهای شیمیایی و فیزیکی همچون دما، هوادهی، pH و کاتیون ها [۲۴]. فاکتورهای بسیاری از قبیل فاکتورهای محیطی و فاکتورهای منبع کربن بر تولید زیستسورفاکتانتها مؤثرند.

۱-۶ زیرلایه های کربنی برای تولید زیستسورفاکتانت
تعدادی زیادی از زیرلایه های کربنی در تحقیقات تولید زیستسورفاکتانت استفاده شده است. در حقیقت نوع، کیفیت و کمیت تولید زیستسورفاکتانت توسط ماهیت زیرلایه کربنی متأثر است و بهود می باشد. دیزل و نفت خام، منبع خوبی برای نیاز کربن و ساکاروز و گلیسرول نیز جهت تأمین نیاز کربن تولید زیستسورفاکتانت به شمار می آیند. در عملیات بر روی فاضلاب، از استانات و مقدار کمی هگزادکان قابل حل به عنوان منبع کربن جهت رشد گوردونیا آگار استفاده شده است و تولید زیستسورفاکتانت در ابعاد بالا در راکتورهای غیرمدامون انجام گرفته است. مشاهده شده است که اهمیت منبع کربن زیستسورفاکتانت نقش اصلی را در تولید ایفا می کند. اشاره شده است که منبع کربن مانند غلظت مواد غذایی، pH و مرحله کشت، بر محصول تولید رامنولیپید تأثیر می گذارد [۲۲].

زیرلایه های متفاوتی جهت تولید زیستسورفاکتانتها تا به حال مورد استفاده قرار گرفته است که در جدول (۸) آمده است.

۲-۶ منابع نیتروژن

نیتروژن در محیط کشت تولید زیستسورفاکتانت بسیار مهم است چراکه این ماده برای رشد میکروبی ضروری است و سنتز آنزیم و پروتئین به آن بستگی دارد. ترکیبات نیتروژن مختلفی برای تولید

در تحقیقی با استفاده از گونه رامنولیپید، سویه سودوموناس آرجینوسا پی ای ۱، که مولد زیستسورفاکتانت است، جهت تعیین میزان کاهش کشش سطحی بر انواع هیدروکربن ها، در صورت استفاده از زیستسورفاکتانت، به نتایج جالب توجهی دست یافته اند که حاصل آن در جدول (۷) ارائه گردیده است [۱۰]:

جدول ۷- اندازگیری کشش سطحی پس از هفت روز تخمیر سودوموناس آرجینوسا پی ای ۱۰

منبع کربن	کشش سطحی ابتدایی D/cm	کشش سطحی نهایی D/cm	% تغییر در کشش سطحی
- هگزان	۵۳/۹۰	۲۸/۳۵	۴۷/۴
نفت	۵۴/۰۰	۵۱/۶۰	۴/۴
پارافینیک	۴۰/۰۰	۲۷/۶۰	۳۱
نفت باباسو	۵۳/۰۰	۲۷/۴۶	۴۸/۲
گلیسرول			

۵- تولید زیستسورفاکتانت

زیستسورفاکتانتها معمولاً به صورت برون سلولی یا بخشی از غشاء سلولی بوسیله یاخته، باکتری یا رشته های قارچ تولید می شوند. انواع مختلفی از باکتری در تحقیقات انجام شده روی زیستسورفاکتانتها جهت کشت استفاده شده اند. بیشتر باکتری های استفاده شده، از مکان های آلوده جداسازی می شوند، که معمولاً شامل هیدروکربن نفتی و فاضلابهای صنعتی است.

۶- فاکتورهای مؤثر بر تولید زیستسورفاکتانت

ترکیب درصد و فعالیت امولسیون کنندگی زیستسورفاکتانت تنها به گونه مولد وابسته نیست بلکه به شرایط کشت نیز وابسته است،

رشد تحت شرایط شدید موجود در مخازن نفت مثل دمای بالا، فشار، نمک و اکسیژن پایین باشد. نتایج نشان داده اند که زیست‌سوزفراکتانت MEOR171 و 172 MEOR171 تولیدی از گونه سودوموناس، تحت تأثیر دما و pH و غلظت نمک‌های کلسیم و منیزیم قادر به رشد است و در بسیاری از مخازن نفتی یافت می‌شود. غلظت نمک نیز بر تولید زیست‌سوزفراکتانت تأثیر می‌گذارد، که به تأثیر آن بر فعالیت سلولی بستگی دارد. برخی زیست‌سوزفراکتانت‌ها با غلظتهای بالای ۱۰٪ نیز تأثیر نمی‌پذیرند، اگرچه کاهش ناچیزی در CMC مشاهده می‌شود [۲۲]. در زیر برخی از عوامل محیطی مؤثر بر تولید این محصولات را بیان می‌کنیم.

pH ۱-۳-۶

در تحقیقی به بررسی تأثیر pH در کشت و تولید زیست‌سوزفراکتانت از گونه‌ای خاص پرداختند، جهت تنظیم آن از بافر فسفات استفاده کردند تا pH را از ۴ تا ۸ برسانند. در این تحقیق با کشت رسانیدند که بهترین pH برای تولید عدد ۸ است، که در حقیقت pH طبیعی در آب دریا است [۲۶]. اما در پژوهش دیگری در تولید گلایکولیپید توسط گونه سی. آنتراکتیکا^۵ و سی. آپیکولا^۶ از محیط کشت اسیدی بهره بردن، که pH بهینه برای رشد این ریزاندام‌ها ۵/۵ است. بدون کنترل pH میزان تولید را نمی‌توان در یک مقدار ثابت و بالا نگه داشت [۲۷].

۲-۳-۶ دما

بیشتر تولیدات زیست‌سوزفراکتانت‌ها در محدوده دمایی ۲۵ تا ۳۰°C صورت گرفته است. کاساس و اوکوا^۷ در پژوهشی اشاره کردند که میزان سوفرولیپید^۸‌های حاصله توسط یک گونه خاص تحت عنوان سی. بومیکولا^۹ در دمای ۲۵ یا ۳۰°C یکسان است. این در حالی است که در دمای ۲۵ درجه میزان رشد بیومس پائین تر و میزان مصرف گلوكز بالاتر از تخمیر در دمای ۳۰ درجه سلسیوس است [۲۸و۳۲]. در تحقیق دیگری نیز اشاره شده است که بیشینه تولید

زیست‌سوزفراکتانت‌ها مورد استفاده قرار گرفته اند، همچون پپتن، اوره^۱، آمونیم سولفات، نیترات آمونیم، نیترات سدیم، عصاره مخمر، عصاره^۲ گوشت و عصاره مالت برای تولید زیست‌سوزفراکتانت‌ها مورد استفاده قرار گرفته‌اند.

جدول ۸- زیرلایه برای عامل‌های سطح فعال میکروبی و مزیت آنها [۲۲]

منبع	بخش مرتبط به زیرلایه	محصول تولیدی
نشاسته	پودر	زیست‌سوزفراکتانت
روغن کنجاله سویا	دانه‌ها	زیست‌سوزفراکتانت
چغندر قند	پوست	زیست‌سوزفراکتانت
سیب زمینی	پوست	زیست‌سوزفراکتانت
شیرین	پوست	زیست‌سوزفراکتانت
ذرت خوش‌ای	پوست	زیست‌سوزفراکتانت
سبوس برنج و گندم	پوست ساقه	زیست‌سوزفراکتانت
تفاله نیشکر	پوست ساقه	زیست‌سوزفراکتانت
تفاله آب سیب	گوشت میوه	زیست‌سوزفراکتانت
آب پنیر	آب پنیر	زیست‌سوزفراکتانت

اگرچه عصاره مخمر بیشتر به عنوان منبع نیتروژن در تولید زیست‌سوزفراکتانت استفاده شده است، استفاده از آن به غلظت ارگانیسم و محیط کشت بستگی دارد. در کشت ریزاندام آرتربوکتر پارافینوس^{۱۰}، نمک‌های آمونیم و اوره به عنوان منبع نیتروژن جهت تولید زیست‌سوزفراکتانت مناسب‌تر گزارش شده‌اند که باعث بازدهی تولید بالاتر شده است [۲۵].

۶-۳ فاکتورهای محیطی

تولید زیست‌سوزفراکتانت‌ها مانند هر واکنش شیمیایی دیگر، از فاکتورهایی تأثیر می‌پذیرد که تولید آن را افزایش می‌دهد یا آن را متوقف می‌کند. بنابراین، فاکتورهای محیطی همچون pH، میزان نمک و دما بر تولید زیست‌سوزفراکتانت مؤثر است. در کاربردهای باکتری برای ازدیاد برداشت به روش میکروبی، باکتری باید قادر به

- 5. Y. Lipolytica
- 6. C. Antarctica
- 7. C. Apicola
- 8. Casas and Ochoa
- 9. Sophorolipids
- 10. C. Bombicola

- 1. Urea Peptone
- 2. Yeast
- 3. Extract
- 4. Arthrobacter Paraffineus

نکته جالب توجه در مورد ریزاندامهای مولد بیوسورفاکتانت آن است که اغلب این باکتری‌ها علاوه بر هالوفیل (نمکدوست) بودن، ترموفیل (گرمادوست) و یا حتی اکسترم ترموفیل^۳ نیز هستند. یعنی یعنی به حرارت‌های بالا مقاومند. از همین رو، محصولات تولیدی آنها نیز در برابر حرارت مقاوم بوده و به راحتی غیرفعال نمی‌شوند.

۸- کاربرد میدانی از دیدابرد اشت با سورفاکتانت‌ها
اولین آزمایش میدانی MEOR با استفاده از زیستسورفاکتانت‌ها در میدان نفتی لیسبون در آرکانزاس امریکا در سال ۱۹۵۴ انجام پذیرفت که با استفاده از میکروب کلستریدیوم و ملاس تزریق شده به چاه نفت پاسخ به صورت، تولید گاز و اسید، افزایش گرانزوی و چگالی نفت و افزایش کسر سبک نفت بوده است. و از آن موقع تاکنون آزمایشات متعددی انجام گرفته و تنها در سال ۲۰۰۳ در آمریکا بیش از ۴۰۰ آزمون میدانی در این زمینه انجام گرفته است.^[۳۴].

۹- نتیجه‌گیری

طی ۲۰ سال اخیر کاربرد زیستسورفاکتانت‌های میکروبی و بیومولوسیون‌کننده‌ها و پتانسیل استفاده از آنها در صنعت نفت بسیار مورد بررسی قرار گرفته است. اما به دلیل مشکلات تولید و پیامدهای ناشناخته استفاده در مقیاس وسیع، فقط تعداد محدودی از آنها تجاری شده‌اند. با توجه به پیشرفت روزافزون فناوری و تمایل بیشتر و بیشتر به فرایندهای اینمن که کمترین آسیب و آلودگی را برای محیط زیست دارند و وضع قوانین زیست محیطی، بهره‌گیری از روش ازدیاد برداشت به روش میکروبی و به ویژه بهره‌گیری از زیستسورفاکتانت‌ها در حال افزایش است. زیستسورفاکتانت‌ها به دلیل زیست تخرب پذیری و سمیت پایین بسیار ارزشمند هستند، همچنین هزینه تولید آنها پایین است چراکه برای تولید این محصولات نیازی به محیط کشته‌های گران قیمتی نیست و از ترکیباتی همچون ملاس نیز می‌توان برای این کار استفاده نمود. برای استفاده از آنها در مقیاس صنعتی باید از منابع تجدید پذیر ریزاندامها بدست آمده است، اما تحقیقات انجام گرفته بیشتر متوجه انواع گونه‌های باسیلوس، اسینتوباکتر و سودوموناس بوده است.

3. Extreme Thermophile

سی. بومبیکولا در ۳۰ درجه سلسیوس است در حالی که بهترین دما برای تولید سوفولیپیدها ۲۷°C است.^[۲۹] در کشت سی. آنتارستیکا، تغییر دمایی باعث تولید زیستسورفاکتانت‌های مختلفی می‌شود. بالاترین تولید لیپید مانوسیلریتریتول^۱ در دمای ۲۵ درجه سلسیوس سلسیوس حاصل می‌شود.^[۳۰]

۶-۳-۳ غلظت یون فلزی

غلظت یون‌های فلزی نقش بسیار مهمی را در تولید برخی زیستسورفاکتانت‌ها ایفا می‌کنند، چراکه آنها به کوفاکتورهای^۲ مهمی برای بسیاری آنزیم‌ها تبدیل می‌شوند. تولید بالای زیستسورفاکتانت سورفاکتین در حضور نمک معدنی Fe^{2+} در محیط کشت رخ می‌دهد.^[۳۱]

۶-۳-۴ هوادهی و همزدن

تولید زیستسورفاکتانت ان/ اتروپولیس و ای. کالکوستیکوس در اثر افزایش تنش برشی ناشی از هم زدن یا هوادهی در شدت‌های بالای آن، کاهش می‌یابد، این در حالی است که در مخمرها میزان تولید افزایش می‌یابد.^[۱۳] مطالعاتی بر روی سویه سی. آنتارکتیکا که مولد زیستسورفاکتانت است صورت گرفت که در نتیجه آن در شدت هوادهی ۱v/vm به میزان تولید $45/5g\cdot l^{-1}$ رسیدند و غلظت اکسیژن محلول ۵۰٪ میزان اشباع بود. با این وجود، با شدت ۲v/vm میزان تولید کف افزایش یافت و تولید زیستسورفاکتانت به ۸۴٪ کاهش یافت.^[۳۲ و ۳۳]

۷- مزایای زیستسورفاکتانت‌ها در صنایع نفتی

برخلاف سورفاکتانت‌های شیمیایی که اثرات زیانبار زیستمحیطی فراوانی بر جای می‌گذارند، بیوسورفاکتانت‌ها فاقد هرگونه عوارض نامطلوب بر روی اکوسیستم طبیعی است. یکی از نکات جالب توجه آن است که به خالص بودن بیوسورفاکتانت نیازی نیست و حتی محیط کشت حاوی باکتری‌های مولد این ترکیبات هم می‌تواند برای استحصال نفت خام مورد استفاده قرار گیرد. زیستسورفاکتانت‌ها همچنین می‌توانند در کنترل آلودگی‌های صنعتی، آلودگی‌های نفتی، زیست پالایی و سم زدایی از خاکهای آلوده مفید باشند.^[۳۳]

1. Mannosylerthritol
2. Cofactors

- oil recovery". *App Environ Microbiol.*,45(3): pp. 1066-1072,(1983).
- [9] Urum, K., Pekdemir, T., "Evaluation of biosurfactants for crude oil contaminated soil washing". *Chemosphere* 57,pp. 1139-1150,(2004).
- [10] Santa, L., Sebastian, G., Menezes, E., Alves, T., Santos, A., Pereira,N., Freire, D., "Production of Biosurfactants from *Pseudomonas aeruginosa* PA1 Isolated in Oil Environments", Vol. 19, No. 02, pp. 159 - 166, (2002).
- [11] Khire, J., Khan, M., "Microbially enhanced oil recovery (MEOR). I: Importance and mechanism of MEOREnzyme Microbiol Technol". 16: pp.170-172,(1994).
- [12] Mazaheri Assadi, M ., Tabatabae, M., "Biosurfactants and their Use in Upgrading Petroleum Vacuum Distillation Residue: A Review". *Int. J. Environ. Res.*, 4(4): pp.549-572, ISSN: 1735-6865, (2010).
- [13] Desai, J., Banat, I., "Microbial production of surfactants and their commercial potential. *Microbiol*". *Mol. Biol. R.*, 61,pp. 47-64 (1997).
- [14] Bordoloi, N., Konwar, B., "Microbial surfactant-enhanced mineral-oil Recovery under laboratory conditions, colloids and surface", B: *Biointerfaces*, 63: pp. 73-82, (2008).
- [15] Sen, R., "Biotechnology in petroleum recovery": The microbial EOR, *Progress in Energy and combustion science* 34,pp. 714-724(2008).
- [16] Bagher, T., Shourian, M., Roostaazad, R., Rouholamini, A., Adelzadeh, M. R., Akbari Noghabi, K., "An efficient biosurfactant-producing bacterium *Pseudomonas aeruginosa* MR01", Isolated from oil excavation areas in south of Iran, colloids and surfaces B:*Biointerfaces*,69,pp.183-193(2009).
- [17] Soudmandasli, A., Ayatollahi, S., Mohabatkar, H., "Assessing the effect of temperature and salinity on Microbial Enhanced Oil Recovery".*Journal of Petroleum Science and Engineering* .pp.161-172, (2011).
- [18] Vaza, D., Gudinab, J., Alamedaa, E., Teixeirab, A., Rodrigues, R., " Performance of a biosurfactant produced by a *Bacillus subtilis* strain isolated from crude oil samples as compared to commercial chemical surfactants". *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 89 pp.167- 174,(2012).
- [19] Mawgoud, A., Aboulwafa, M., Hassouna, N., "Optimization of surfactin production by *Bacillus subtilis* isolate BS5." *Biochem. Biotechnol*.pp.150 289,(2008).
- [20] Ghojavand, H., Vahabzadeh, F., Roayaie, E., Shahraki, A., "Production and properties of a biosurfactant obtained from a member of the *Bacillus subtilis* group (PTCC 1696)". *Journal of Colloid and Interface Science* 324,pp 172-176, (2008).
- [21] Portilla, O., Torrado, A., Dominguez, J., Moldes, A., Agric,J., "Stability And Emulsifying Capacity Of Biosurfactants Obtained from Lignocellulosic Sources Using *Lactobacillus pentosus*". *Food Chem*.pp.56 (2008).

استفاده از سایر گونه‌ها نیاز به بررسی اقتصادی دارد. برای مثال گونه مایکوباکتریوم در مجاورت هیدروکربن‌ها رشد می‌کند و زیست سورفاکتانت تری هالولیپید تولید می‌نماید، اما تحقیقات اندکی روی استفاده از آن در صنایع نفت صورت گرفته است. ترکیب درصد و فعالیت امولسیون کنندگی زیست سورفاکتانت تنها به گونه مولد وابسته نیست بلکه به شرایط کشت مانند منبع کربن، منبع نیتروژن، محدودیت مواد مغذی، پارامترهای شیمیایی و فیزیکی همچون دما، هوادهی، pH نیز وابسته است. بیشتر تولیدات زیست سورفاکتانت‌ها در محدوده دمایی ۲۵ تا ۳۰°C صورت گرفته است. فعالیت زیست سورفاکتانت‌ها تحت تأثیر pH نیز می‌باشد، که نتایج بررسی محققین بیانگر این است که افزایش pH در فاصله ۲ تا ۶ باعث کاهش مقدار فعالیت سطحی مواد بیولوژیکی می‌شود. pH مطلوب برای این مواد عدد ۸ می‌باشد ضمن اینکه افزایش pH از ۸ به ۱۲ تأثیری بر فعالیت مواد فعال سطحی زیستی نمی‌گذارد.

مراجع

- [1] Jonathan, D., Hamme, V., Singh, A., Owen, P., "Recent Advance in Petroleum Microbiology "Microbiology and Molecular Biology Reviews,pp.527-532, (2003)
- [2] Bryant steren, L., Thomas,L., "Reservior Engineering Analysis of Microbial Enhanced Oil Recovery", SPE Paper 63229 Pres, at the SPE annual technical conference and exhibition, USA ,pp.34-40(2000).
- [3] Bento,F., Gaylard, C., "The production of interfacial Emulsion by Bacterial isolates from Diesel Fuels" intermational bioderioration and biodegradation ,pp.31-33,(1996).
- [4] Lazar, I., "Microbial Enhanced Oil Recovery (MEOR)". *Petroleum Science and Technology*, 25(3): pp.1353–1366, (2007).
- [5] Bao, M., Kong, X., Jiang, G., Wang, X.,Li, X., "Laboratory study on activating indigenous microorganisms to enhance oil recovery in shengli oil field", *Journal of Petroleum science and Engineering*,pp. 42-46,66(2009).
- [6] Zhao, X., Jiang, B., "Brief Review on MEOR Technology". *Petrol Sci*; 1: pp.17-23, (2004).
- [7] Magdalena, P., Grażyna, A., Plaza, P., Piotrowska-Seget,Z., Singh,S., " Environmental Applications of Biosurfactants: Recent Advances".*Int. J. Mol. Sci.*, 12; doi:10.3390/ijms12010633,pp. 633-654,(2011).
- [8] Jang, L., Chang, P., Findley, J.,Yen, T., "Selection of bacteria with favorable transport properties through porous rock for the application of microbial-enhanced

- [22] Pattanathu. K., Rahman, S., Gakpe, E., "Production, Characterisation and Application of Biosurjactants-Review". *Biotechnology* 7(2): pp-360-370,(2008).
- [23] Van, M., Lee, H., Trevors, J., "Application of microbial surfactants" *Biotechnol Adv.*, Vol. 9, pp. 241-252(1991).
- [24] Salihu, A., Abdulkadir, I., Almustapha, M., "An investigation for potential development of biosurfactants". *Microbiol.Mole. Biol. Rev.*, 3(5):pp.111-117(2009).
- [25] Adamczak, M., Bednarski, W., "Influence of medium composition and aeration on the synthesis of biosurfactants". *Candida antartica Biotechnology letters*, 22: pp.313-316(2000).
- [26] Zinjarde, S., Pant, A., "Emulsifier from tropical marine yeast", *Yarrowia lipolytica NCIM 3589*. *Journal of Basic Microbiology*, 42: pp. 67-73, (2002).
- [27] Bednarski, W., Adamczak, M., Tomasik, J., "Application of oil refinery waste in the biosynthesis of glycolipids by yeast". *Bioresource Technology*, 95: pp.15-18, (2004).
- [28] Casas, J., Garcia, F., "Sophorolipid production by *Candida bombicola* medium composition and culture methods". *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 88:pp. 488-494,(1999).
- [29] Deshpande, M., Daniels, L., "Evaluation of sophorolipid biosurfactant production by *Candida bombicola* using animal fat". *Bioresource Technology*, 54: pp. 143-150, (1995).
- [30] Kitamoto, D., Ikegami, T., Suzuki, G., "Microbial conversion of n-alkanes into glycolipid biosurfactants, mannosylerthritol lipids by *Pseudozyma (Candida antarctica)*". *Biotechnology Letters*, 23: pp. 1709-14, (2001).
- [31] Thimon, L., Peypoux, F., Michel, G., "Interaction of surfactin, a biosurfactant from *Bacillus subtilis*, with inorganic cations". *Biotechnology Letters*, 14: pp.713-718, (1992).
- [32] Guilmanov, V., Ballistreri, A., Impallomeni, G., "Oxygen transfer rate and sophorose lipid production by *Candida bombicola*". *Biotechnology and Bioengineering*, 77:pp. 489-495, (2002).
- [33] Pattanathu, K., Rahman,M., and Edward, G., "Production, Characterisation and Application of Biosurjactants-Review". *Biotechnology* 7(2):pp.360-370 ,(2008).
- [34] Lazar, G., Yen, T., "Microbial Enhanced Oil Recovery (MEOR)" *Petroleum Science and Technology* 25:pp.1353-1366, (2007).